体外診断用医薬品
製品番号 6604621

**2009 年 11 月改訂
*2007 年 2 月改訂
承認番号 20600AMY00256000

日本標準商品分類番号
877449

*T 細胞キット
サイトスタット／コールタークローン
CD3（IgG1）-RD1

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合には、保証しません。
4. ご使用にあたっては、測定装置の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

形状・構造等（キットの構成）

本品は蛍光色素を標識したマウス・モノクローナル抗体試薬（溶液）です。1 テストあたり 0.5μg のモノクローナル抗体を含有しています。

対象抗原　:T 細胞レセプタ関連抗原；成熟細胞（20,000 ダルトン）。

抗原特異性　:CD3 抗原は、系統特異的な pan-T 細胞の細胞表面抗原であり、T 細胞レセプタに関連している。分子量 20 及び 25KD の 2 つの糖タンパクで構成され、T リンパ球レセプタと複合体 （CD3/Ti または CD3/TCR 複合体）を形成しています。CD3 抗原は Ti（または TCR）による抗原に伴う T リンパ球増殖への活性化シグナルの導入のために必要です。また、CD3（IgG1）抗体は末梢血 T リンパ球に対してマイトジェン活性を有します。

抗原の分布　:通常、成熟胸腺細胞、休止期及び活性化末梢血 T リンパ球（インデューサ及びサプレッサ／細胞傷害性ポピュレーション）、NK 活性を示す細胞の一部に存在します。ほとんどすべての末梢血成熟 T リンパ球に発現しており、胸腺中では 20～30%の細胞が CD3 陽性です。末梢血 B リンパ球、単球、顆粒球、血小板では検出されません。CD3 抗原は未熟及びコモン胸腺細胞の細胞質内に CD3 の発現がみられます。

クローン　:UCHT1〔CD3（1gG1）〕；セザリー病患者から得られた胸腺細胞及び末梢血リンパ球で免疫した BALB／c マウスの脾臓細胞と、P3/NS1/1-AG4-1 ミエローマ細胞の融合細胞から分離

Ig 構造　:マウス IgG1H 鎖及びκ-L 鎖

細胞毒性　:なし

原料　:融合細胞の培養上清

精製法　:アフィニティ クロマトグラフィ

標識　: RD1: Phycoerythrin
- RD1／Protein　:0.5～1.5
- 励起波長　:486～575nm
- 蛍光波長　:568～590nm

試薬濃度　:1 バイアル 0. 5mL 中の抗体以外の各種成分の濃度
- BSA　:0.2%
- リン酸カリウム　:0.01M
- Nacl　:0.15M
- NaN_3　:0.1%
- スタビライザ

使用目的

リンパ球細胞表面抗原の分析及び T 細胞の測定

測定原理

測定方法はフローサイトメトリーを用いた直接免疫蛍光法です。すなわち、本品を T 細胞上の CD3 抗原に反応させ、細胞に波長 488nm の励起光を照射して緑色蛍光（FITC）またはオレンジ色蛍光（RD1）を発光させ、その蛍光を光電子増倍管で増幅し、その電気信号をコンピュータで解析、表示させることにより抗体陽性細胞の計測を行います。

測定には 4 チャンネル以上の検出器のあるフローサイトメーターを使用します。前方散乱光（FS）と側方（90°方向）散乱光（SS）によるスキャッタ・サイトグラム中のリンパ球領域にゲートをかけることにより、自動的にリンパ球のみを計測し、蛍光強度の解析ができます。また、解析細胞数も数千個と多いため、高精度で再現性の良い結果が得られます。

操作上の注意

1. 本品はフローサイトメトリー専用試薬であるので、蛍光顕微鏡には使用しないでください。
2. 本品は全血検体用に調製されています。新鮮または凍結保存した分離単核球検体に使用しないでください。
3. 抗凝固剤としては、EDTA、ヘパリン等を用いることができますが、いずれの場合でも採血後は室温で保存し、6 時間以内に染色してください。特に白血病細胞等では、保存によって急激に陽性率の低下を来たす場合があるので注意してください。
4. 静脈血検体の場合、細胞のバイアビリティ（生存率）は 90%以上が理想的ですが、異常検体ではこれを下回ることがあります。
5. 溶血不良となるおそれがあるため、検体を試験管に分注する際は試験管の口や壁面に検体を付けないよう注意してください。付着した血液は、綿棒等で取り除いてください。
6. 病態と特定の白血球ポピュレーションの変動とは必ずしも一致しないため、測定結果は臨床及び他の診断上データと共に使用します。
7. 有核赤血球、蛋白濃度が異常な場合、ヘモグロビン合成異常では、赤血球の溶血が不完全となる場合があります。この場合、溶血していない赤血球をリンパ球としてカウントするために陽性率が実際よりも低くなるおそれがあるので注意してください。
8. 溶血時間が長すぎると白血球にもダメージが及ぶことがあります。
9. サンプルの前処理をコールター イムノプレップで行う場合は、遠心洗浄の操作は不要です。サンプル自動調製システム TQ-Prep（または Multi-Q-Prep）を用いることにより、サンプル処理が短時間で簡単にできます。TQ-Prep（または Multi-Q-Prep）にサンプルをセットし、スタートボタンを押すだけでサンプルの処理が完了します。
10. フローサイトメーターのレーザ光軸の設定不良や不適切なゲート設定により、誤った結果が得られる場合があります。
11. 臓器移植等の患者で治療目的に CD3 抗体の投与を受けている場合は、本品による T 細胞の測定に影響することがあるので、CD2、CD5 等他の T 細胞マーカーの分析とともに使用してください。
12. CD3 抗原は、T 細胞に対する特異性が最も高いが、胸腺における T 細胞成熟過程では遅れて発現する成熟 T 細胞マーカーであるため、他の T 細胞マーカーが陽性であっても CD3 は陰性である細胞があるので注意してください。特に未熟 T 細胞由来の白血病／リンパ腫では CD3 が陰性となる例が多いことが知られています。
13. 測定結果の解釈を行う場合には、測定条件及び供血者の年令、性別、喫煙習慣等の影響も考慮してください。

用法・用量（操作方法）

【試薬の調製】

モノクローナル抗体試薬はそのまま使用します（1 テストあたり 10μL）。

【その他必要な試薬】

1. TQ-Prep（または Multi-Q-Prep）を用いてサンプルの処理を行う場合

   コールター イムノプレップ（専用試薬；別売）
   製品番号 7546999 容量 100 テスト

   コールター イムノプレップは以下の 3 つの試薬で構成されています。

   ①イムノプレップ A（溶血剤）
   ②イムノプレップ B（反応停止剤）
   ③イムノプレップ C（固定剤）

2. コールター全血法でサンプルの処理を行う場合

1)コールター全血ライジングキット(別売)

製品番号 6603152　　容量 300 テスト

PBS(下記)24mL にイムノライズ*1mL を加える。
フィクサティブ**はそのまま使用する。

* イムノライズ:コールター全血ライジングキット中の溶血試薬
** フィクサティブ:コールター全血ライジングキット中の固定剤

2)PBS(リン酸緩衝生理食塩水)

PBS バッファ(製品番号 6603369)1 パックを蒸留水 500mL に溶解します。調製後の pH は 7.2±0.2 で、防腐剤等は含んでいません。

3. アイソタイプコントロール

サイトスタット/コールタークローン MsIgG1-RD1

製品番号 6604112　　容量 50 テスト(0.5mL)

【検体の採取と調整】

検体には EDTA、ヘパリン等の抗凝固剤を用いて採血した末梢血を用います。染色に最適な白血球数の範囲は3～10×10^3個/mm^3であるため、白血球数が 10×10^3個/mm^3を超える場合は検体を希釈します。 また、3×10^3 個/mm^3 より少ない場合は遠心して再浮遊させます。Q-Prep/イムノプレップ試薬システムを用いて赤血球を溶血する場合は、同一患者の血漿で検体を希釈します。それ以外の溶血剤を用いる場合にはリン酸緩衝生理食塩水(PBS)で希釈します。

注)検体は採血後室温(20～25℃)で保存します。採血後 6 時間以内に操作を開始してください。

細胞数の調整

a)白血球数が多い検体(>10×10^3個/mm^3)

白血球数		希釈倍率
10～20	×10^3	:2 倍
20～30	×10^3	:3 倍
30～40	×10^3	:5 倍
40～60	×10^3	:6 倍
60～100	×10^3	:10 倍
100～200	×10^3	:20 倍

* 白血病やリンパ腫検体でみられるタンパク異常による非特異的結合を減らすには、あらかじめ 37℃の PBS で洗浄します。

b)白血球数が少ない検体の場合(<3×10^3個/mm^3)

バフィーコート法

(1)検体を 20～25℃で 500×g、5 分間遠心します。
(2)白血球の層をピペットで採取します。この際、白血球全部を確実に回収するため赤血球及び血漿も一部回収します。
(3)数回ピペッティングして、十分に懸濁させます。
(4)コールターLH 700 シリーズ等のヘマトロジーアナライザーや血球計算板や血球計算板を用いて細胞濃度を測定します。
(5)細胞濃度を 10×10^3 個/mm^3 に調製します。1 テストあたり 100μL を用い、以下の操作手順に従って処理します。

【操作方法】

1. コールター イムノプレップ(別売;弊社までお問い合わせ下さい)を用いる場合(Q-Prep 法)

コールター イムノプレップは、TQ-Prep(または Multi-Q-Prep)*用に Coulter Immunology が開発した溶血試薬キットで以下の 3 つの試薬で構成されています。

①イムノプレップ A(溶血剤)
②イムノプレップ B(反応停止剤)
③イムノプレップ C(固定剤)

*TQ-Prep(または Multi-Q-Prep):フローサイトメトリー用の多検体サンプル自動調製システム。コールター イムノプレップを組み込み、一定時間ごとに溶血剤、反応停止剤、固定剤を試験管に自動的に分注、撹拌することにより、一度に多検体のサンプル自動処理ができます。

1) モノクローナル抗体反応用と対照用に 12mmφ×75mm の試験管を用意します。
2) それぞれの試験管に全血 100μL を分注します。
3) モノクローナル抗体試薬 10μL を反応用の試験管に加えます。対照用の試験管にはコントロール試薬(サイトスタット/コールタークローン MSIgG1-RD1、別売)を 10μL 加えます。
4) よく撹拌した後、室温で 10 分間反応させます。
5) 試験管を TQ-Prep(または Multi-Q -Prep)で溶血・固定処理します。
6) EPICS®フローサイトメーターを用いてリンパ球領域の蛍光陽性率を測定します。
7) 調製したサンプルは、室温で 2 時間まで保存できます。2 時間を超えるときは、2～8℃で遮光保存します。調製後 24 時間以内に測定してください。

2. コールター全血ライジングキットを用いる場合(コールター全血法)

1) モノクローナル抗体反応用と対照用に試験管を用意します。
2) それぞれの試験管に全血 100μL を分注します。
3) モノクローナル抗体試薬 10μL を反応用の試験管に加えます。対照用の試験管にはコントロール試薬(サイトスタット/コールタークローン MSIgG1-RD1、別売)を 10μL 加えます。
4) よく撹拌し、室温で 45 分間反応させます。
5) PBS を 2～3mL 加えて撹拌し、400～450×g、5 分間遠心分離します。
6) 上清を吸引除去します。
7) 溶血剤(キット中の「イムノライズ」を PBS で 25 倍希釈)を 1mL 加えてよく撹拌し、30 秒～2 分間室温で放置します。
8) 溶血が完了(サンプルの透明度が増します)したら、直ちにキット添付の「フィクサティブ」を 250μL 加え、撹拌します。
9) PBS を 2mL 加え、再度撹拌します。
10) 400～450×g、5 分間遠心分離します。
11) 上清を吸引除去します。
12) 9)～11)の操作を繰り返します。
13) PBS を 500μL 加え、よく撹拌します。
14) 以上の処理を行なった後、EPICS®等のフローサイトメーターを用いてリンパ球領域の蛍光陽性率を測定します。検体はアイスバス中で遮光保存し、速やかに測定を行います。

測定結果の判定方法

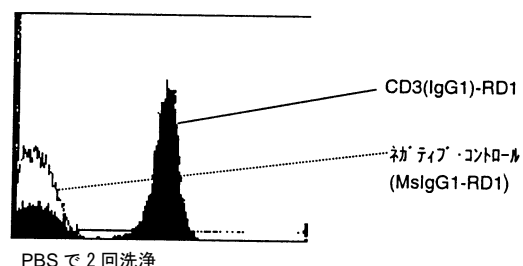
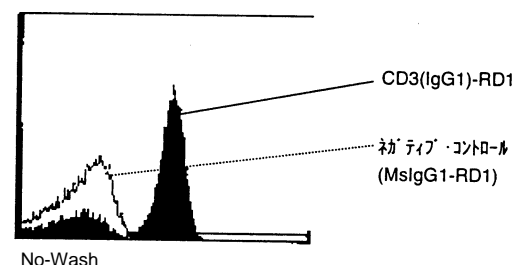
1. 正しく調整し、適切にゲートをかけたフローサイトメーターを用いて細胞を測定します。
2. Q-Prep 法で処理した検体を、EPICS フローサイトメーター以外の装置(FS を狭角で検出するようなフローサイトメーター)で測定する場合には、Q-Prep 法で処理した後に、イオン交換水または蒸留水 0.5mL を試験管に加えます。明瞭な三分画(リンパ球、単球、顆粒球領域)が得られるようにスレッショルドとスキャッタゲインを調整します。
3. 以下のヒストグラムは健常者検体を EPICS プロファイルで測定し、リンパ球領域にゲートをかけたものです。カーソル(↓)は、アイソタイプコントロールを用いた時の非特異的な染色が 98±1%以上になるような位置にセットしてあります。カーソルの右側を抗体陽性としてカウントします。

<健常者検体ヒストグラム例>

CD3(IgG1)-RD1
ﾈｶﾞﾃｨﾌﾞ･ｺﾝﾄﾛｰﾙ
(MsIgG1-RD1)

No-Wash

CD3(IgG1)-RD1
ﾈｶﾞﾃｨﾌﾞ･ｺﾝﾄﾛｰﾙ
(MsIgG1-RD1)

PBS で 2 回洗浄

絶対数の計算

CD3(IgG1)陽性細胞の絶対数は、Flow-Count(絶対数測定用試薬、別

売)を併用して簡便かつ高精度に測定できます。CD3(IgG1)陽性率及び血球数算定(STKS 等を用います)の結果から、CD3(IgG1)陽性細胞の絶対数を求めることもできます。

絶対数(個/mm^3)＝
総白血球数(個/mm^3)×リンパ球%×陽性率%／10^4

【測定条件の確認】

測定条件が正しいかどうかを確認するため、CYTO-TROL(製品番号 6604248 50 テスト)を用いるか、健常者検体を用いて陽性コントロールとします。正常値は施設ごとに設定してください。

Fc レセプタを介した単球、顆粒球に対する非特異結合はリンパ球領域を正しくゲーティングすることで除外できます。

各検体のリンパ球に対する非特異的な抗体の Fc 結合を確認するために適切なネガティブ・コントロール抗体を用います。健常者検体の場合、ネガティブ・コントロール陽性率は通常 1～2%となります。いずれの陽性コントロール検体を測定してもネガティブ・コントロール陽性率が高値を示す場合は、測定結果の信頼性は低くなります。

臨床的意義

免疫機構の機能的中心であるリンパ球のうち、T 細胞は骨髄中の幹細胞を起源とし、胸腺における機能的成熟過程を経て末梢血、組織に現れます。T 細胞はその分化成熟段階に、あるいは機能的サブセットに特有の細胞表面抗原を有しています。コールタークローンモノクローナル抗体はこのような細胞表面抗原を検出することによって免疫機構をさらに詳しく解明する目的で、Harvard Medical School の Dr.S.F.Schlossman の研究グループと Coulter Immunology によって共同開発されました。

ヒト末梢血リンパ球ポピュレーションは T 細胞(胸腺由来)、B 細胞(骨髄細胞)、ヌル細胞の 3 つの細胞タイプから成ります。これらの細胞タイプは顕微鏡検査では形態学的に区別できませんが、細胞膜上の特有な抗原の違いによって同定が可能です。

T 細胞及び B 細胞は免疫機能の中心的役割を果たしています。種々の T 細胞サブタイプが特異的抗原を認識して、エフェクタ機能を発揮したり、細胞性／体液性免疫応答を調節しています。抗原特異的な B 細胞は、T 細胞を介した抗原やマクロファージによる活性化の過程で、抗原特異的な免疫グロブリン(Ig)を産生・分泌する形質細胞へと分化します。

E-ロゼット法は、T 細胞に特異的であるものの、光学顕微鏡下で羊赤血球と T 細胞の結合を観察し細胞数を数えねばなりません。SmIg の測定による B 細胞の同定・算定も、他の細胞集団に Ig の Fc 部分に対するレセプタに結合した Ig による SmIg 偽陽性がみられるため、精度に限界があります。

さらに近年、T 細胞及び B 細胞を同定するためのモノクローナル抗体が開発されました。従来の比較的特異性の低いポリクローナル抗体(異種抗血清)に比べ、モノクローナル抗体は各々が異なる T 細胞及び B 細胞の表面抗原を特異的に認識します。これにより、正確で確実なリンパ球測定だけでなく、他の細胞マーカー(TdT、HLA-DR 関連抗原、SmIg)と組み合せて、T 細胞及び B 細胞分化段階の同定も行うことができます。

細胞表面抗原は、細胞の成熟(分化)段階や機能を反映する形で、T 細胞、B 細胞上に発現あるいは消失しています。ある抗原が発現した細胞には、他の表面抗原もその一部または全部が様々な期間発現しています。

T 細胞における"pan-T 細胞"抗原は、CD7(初期前胸腺細胞);CD2;CD5(未熟胸腺細胞);細胞質内 CD3(未熟及び中間型胸腺細胞);細胞表面 CD3(成熟胸腺細胞)というような順序で発現していきます。これに伴って、CD4 と CD8 の同時発現(中間型胸腺細胞)とその後の各々単独の発現(成熟胸腺細胞)がみられます。これらの表面抗原は、末梢血やリンパ組織中の休止期及び活性化 T 細胞まで分化段階を通してその発現が継続します。

"Pan-T 細胞"抗原及び"Pan-B 細胞"抗原に特異的なモノクローナル抗体は、それぞれ成熟 T 細胞及び B 細胞の同定・算定に用いることができます。特定の細胞表面抗原に特異的なモノクローナル抗体は、リンパ球集団の成熟(分化)段階や機能を規定するのにも使用できます。本品は、"Pan-T 細胞"抗原のひとつである CD3 抗原への特異的反応により成熟 T 細胞を同定・算定するために、CD3(IgG1)モノクローナル抗体を使用しています。

蛍光抗体法によりリンパ球の分類を行う場合、通常は比重遠心分離あるいは溶血処理により赤血球を除去し、リンパ球分画を回収しています。いずれの方法とも混入した分離液や溶血剤あるいは未反応の抗体を除去するため、撹拌～遠心分離～アスピレーションの操作を繰り返す必要があります。この一連の操作の繰り返しにより、腫瘍細胞や活性化細胞がダメージを受けるおそれがあります。また、アスピレーション操作による細胞のロスも生じます。この問題を解決するため、遠心分離～アスピレーションの操作のない検体処理法(No Wash 法)が考案され、全血サンプルを No Wash 法で処理する自動前処理システムとしてコールター Q-Prep 及び Multi-Q-Prep、TQ-Prep が開発されています。サイトスタット／コールタークローンはバックグラウンドの蛍光が低く、コールター Q-Prep または Multi-Q-Prep、TQ-Prep による前処理に最適なリンパ球サブセット分析用モノクローナル抗体試薬です。

T リンパ球の陽性率及び絶対数は、ある種の免疫不全症や自己免疫疾患、白血病／リンパ腫における自家骨髄移植後の正常リンパ球回復のモニタリング、疾病時の免疫機能評価の補助、治療による免疫学的な影響の判定等に有用です。

T リンパ球数異常の有無を明らかにすることは、無γグロブリン血症, Common Variable Immunodeficiency、重症複合型免疫不全症、胸腺無形成症(DiGeorge 症候群)等の免疫不全症の診断や予後判定の手助けとなります。T リンパ球陽性率の減少は、多発性硬化症(MS)、全身性エリテマトーデス(SLE)、一次性シェーグエン症候群等の自己免疫疾患で認められ、慢性の炎症性自己免疫疾病の診断や予後の指標となります。

B 細胞性非ホジキンリンパ腫、ハイリスクの T 細胞性リンパ芽球性白血病、T 細胞性リンパ腫で自家骨髄を移植した患者の血液細胞が再建される間、T 細胞陽性率の減少がみられることから、T リンパ球数の測定が細胞集団の回復のモニタリングの補助として有用であることが示唆されます。T リンパ球数は、悪性腫瘍やウイルス(EBV や CMV 等)、細菌、真菌感染時の免疫機能評価や、化学療法や免疫抑制療法、放射線療法等の治療による免疫学的影響の判定の手助けとしても有用です。

性能

【期待値】

19～65 才までの健常者末梢血を測定して得られた CD3(IgG1)陽性率及び陽性細胞絶対数は以下のとおりです。CD3(IgG1)陽性率は EPICS プロファイルでリンパ球領域にゲートをかけ測定、リンパ球数は S-PLUS IV により測定しました。

	n	Min	Max	Mean±1S.D.
陽性率%	30	56	85	72.6±5.7
陽性細胞数(個/mm^3)	30	831	2,891	1,540.5±454.5

これらはあくまでも期待値の一例であり、期待値は施設ごと設定してください。

【特異性】

CD3(IgG1)モノクローナル抗体(クローン UCHT1)は、白血球分化抗原に関する国際ワークショップにおいて CD3 抗体として認定されています。また、製品で使用する CD3(IgG1)モノクローナル抗体はバーキットリンパ腫由来 B 細胞株(CD20 陽性)と交差反応を示さないことが確認されています。

【再現性】

1) 日内差

CD3(IgG1)陽性細胞株を CD3(IgG1)陰性細胞株で希釈して調製した CD3(IgG1)陽性率の異なる 3 種類の検体を用い、EPICS プロファイルで繰り返し測定しました。値はリンパ球中の CD3(IgG1)陽性率で示しています。

Level	n	Mean%	±1S.D.	%CV
1	10	13.5	0.5	3.9
2	10	58.0	1.0	1.8
3	10	91.5	0.5	0.5

2) 施設間差

健常者から得られた同一検体を 6 つに分け、本品で染色し各々本品で染色し、異なる 3 つの研究室のフローサイトメーターで各々10 回繰り返し測定しました。値は CD3(IgG1)陽性率で表示しています。

施設番号/機械	Mean%	±1S.D.	%CV
1/EPICS プロファイル	84.6	0.5	0.6
2/EPICS プロファイル	84.9	0.3	0.3
3/EPICS プロファイル	83.7	0.6	0.8

【相関性】

末梢血を検体として、本品と弊社の従来品（サイトスタット／コールタークローン T3-RD1）との相関性について調べたところ、以下のような良好な結果が得られました（いずれも全血法、EPICS プロファイルにて測定）。

n	回帰式	相関関係（r）
51	Y=-0.084+1.01X	0.978

使用上または取扱上の注意

1. 本品はアジ化ナトリウムを 0.1%含んでいます。アジ化ナトリウムは酸性下で有毒なアジ化水素酸を産生するため、取り扱いには十分注意してください。また、アジ化物が金属製の排水管内に蓄積することによる爆発の危険性を避けるため、アジ化物を廃棄する際は、施設で定められた方法に従うか、多量の流水で希釈してください。
2. 検体及び検体に触れた器具類は感染の危険性があるものとして取り扱い、適当な表示、処理をした上で廃棄してください。
3. ピペットを口で吸引しないでください。皮膚や粘膜への検体の接触を避けてください。
4. 保管及びインキュベーション中に試薬を強い光にさらさないでください。
5. 試薬が微生物に汚染されないよう注意してください。
6. 有効期限を過ぎた試薬を使用しないでください。

貯法、有効期限、安定性

1. 未開封の試薬は、冷蔵（2～8℃）で保存した場合に各バイアルに明記してある有効期限まで使用できます。
2. 試薬を凍結したり長時間光にさらすことは避けてください。すべての試薬は使用する前に室温（20～25℃）に戻してください。
3. 試薬の外観に変化がみられたりコントロール検体による測定値に大きな変化がある場合は、試薬の劣化が考えられるので使用しないでください。本品の正常な外観は黄色がかった透明な液体です。

包装単位

サイトスタット／コールタークローン　CD3（IgG1）-RD1

製品番号 6604621　容量 50 テスト（0.5mL）

主要文献

1. Bernard A, Boumsell L, Dausset J, Milstein C and SchlossmanSF,eds:1984. Leukocyte Typing New York: Springer-Verlag.p.28,41,196.
2. McMichael AJ,ed:1987. Leukocyte Typing lll Oxford UniversityPress. p.38,40,42,43,116,167,170-172,176,199,302-308,315,475.
3. Reinherz EL and Schlossman SF:1980. The differentiation and function of human T lymphocytes. Cell 19:821-827.
4. Aiuta F, Cerottini J-C, Coombs RRA, Cooper M, Dickler HB, Froland S, Fudenberg HH, Greaves MF, Grey HM, Kunkel HG, Natvig J, Dreudhomme J-L, Rabellino E, Rittz RE, Rowe DS, Seligmann M,Siegal FP, Stjemsward J, Terry WD and Wybran J:1975. Identification,enumeration and isolation of B and T lymphocytes from human peripheral blood. Intemational Union of Immunological Scienties(IUIS),Report-July 1974. Clin lmmunol Immunopathol 3:584-597.
5. Foon KA and Todd RF:1986. Immunologic classifica-tion of leukemia and lymphoma. Blood 68:1-31 .
6. Drexler HG, Gignac SM and Minowada J:1988. Routine immunophenotyping of acute leukemias.Blut 57:327-339.
7. Reinherz EL, Haynes BF, Nadler LM and Bernstein ID:1986. Leukocyte Typing ll. New York:Springer-Verlag. Vo12,p.15-25,37.
8. Caligiuri M, Murray C, Buchwald D, Levine H,Cheney P, Peterson D, Komaroff AL and Ritz J:1987. Pheno-typic and functional deficiency of natural killer cells in patients with chronic fatigue syndrome. J Immnol 139:3306-3313.
9. Reinherz EL, Meuer S, Fitzgerald KA, Hussey RE, Levine H and Schlossman SF:1982. Antigen recong- nition by human T lymphocyies is linked to surface expression of the T3 molecular complex. Cell 30: 735-743.
10. Meuer SC, Acuto O, Hussey RE, Hodgdon JC, Fitzgerald KA, Schlossman SF and Reinherz EL:1983. Evidence for the T3-associated 90K heterodimer as the T-cell antigen receptor.Nature 303:808-81O.
11. Reinherz EL, Cooper MD and Schlossman SF:1981. Abnormalities of T cell maturation and regulation in human beings with immunodeficiency disorders, J Clin invest 68:699-705.
12. Schmidt RE:1989. Monoclonal antibodies for diagnosis of immunodeficiencies. Blut 59:200-206.
13. Benjamini E and Leskowitz S:1991.Immnology; A ShortCourse. (Second Edition) New York: Wiley-Liss. p.211-244.
14. Reinherz EL, Weiner HL, Hauser SL, Cohen JA, Disatso JA and Schlossman SF:1990. Loss of suppressor T cells in active multiple sclerosis. Analysis with monoclonal antibodies. N Engl J Med 303:125-129.
15. Smolen JS, Chused TM, Leiserson WM, Reeves JP,Alling DW and Steinberg AD:1982. Heterogeneity of immunoregulatory T cell subsets in systemic lupus erythematosus. Am J Med 727:783-790.
16. Smolen JS, Morimoto C, Steinberg AD, Wolf A, Schlossman SF, Steinberg RT, Penne E, Rein herz EL, Rerchlin M and Chused TM:1985.Systemic lupus erythematosus: delineation of subpopulations by clinical,serologic and T cell marker analysis. Am J Med Sci 289:139-147.
17. Morimoto C, Reinherz EL, Schlossman SF, Shur PH, Milis JA and Steinberg SD:1980. Alternations in immunoregulatory T cell subsets in active systemic lupus erythematosus.J Clin invest 66:1171-1174.
18. Morimoto C, Reinherz EL, Nadler LM, Distaso JA, Steinberg AD and Schlossman SF:1982. Comparison in T-and B-cell markers in patients with Sjogren's syndrome and systemic lupus erythematosus. Clin Immunol Immunopathol 22:270-278.
19. Pedrazzini AS, Freedman AS, Andersen J, Heflin L, Anderson K, Takvorian R, Canellos GP, Whitman J, Coral F, Ritz J and Nadler LM:1989. Anti-B cell monoclonal antibody purged autologous bone marrow transplantation for B-cell non-Hodgikin's lymphoma:Phenotypic reconstitution and B-cell function. Blood 74:2203-2211.
20. Preijers FWMB, DeWitte T, Wessels JMC, DeGast GC. Van Leeuwen E, Capel PJA and Haanen C:1989. Auto-logous transplantation of bone marrow purged in vitro anti-CD7-(WT-1) Ricin A Immunotoxin in T-cell lymphoblastic leukemia and lymphoma. Blood 74:1152-1158.
21. Reinherz EL O'Brien C, Rosenthal P and Schlossman SF:1980. The cellular basis for viral-induced immunodeficiency: Analysis by moonoclonal anti-bodies. 125:1269-1274.
22. Felsenstein D, Camey WP, Lacoviello VR and Hirsch MS:1985. Phenotypic properties of atypical lympho-cytes in cytomegalovirus-induced mononucleosis. J Infect Dis 152:198-203.
23. Rinaldo CR, Ho M, Hamoudi WH, Gui X and DeBiasio RL:1983. Lymphocyte subsets and natural killer cell responses during cytomegalovirus mononucleo-sis.Infect Immun 40:472-477.
24. Goldstein G, Lifter J and Mittler R:1982. immuno-regulatory changes in human disease defected by monoclonal antibodies to T lymphocytes. In:Monoclonal Anyibodies in Clinical Medicine. McMichael AJ and Fabre JW,eds.New York, NY: Academic Press.p.39-70.
25. Posner MR, Reinherz EL, Lane H. Mauch P, Hellman S and Schlossman SF:1983. Circulating lymphocyte populations in Hodgikin's disease after mantle and paraaortic irradiation. Blood 61:705-708.
26. Beverty PCL and Callard RE:1981. Distinctive functional characteristics of human “T” lymphocyte defined by E rosetting or a monoclonal anti-T cells antibody. Eur J Immunol 11:329-334.
27. 森本幾夫：1986. T細胞サブセット－最近の進歩とその臨床的意義－；リウマチ vol.26, 179-188.
28. 東克己ほか：1986. フローサイトメトリーの基礎的検討第1報； 溶血剤の改良について；臨床病理 vol.34 補刷, 173.
29. 高瀬浩造ほか：1987. FCM のハードに依存する陽性率の変動について；臨床免疫 vol.19 Suppl.11, 38-41.
30. 東克己ほか：1987 モノクロナール抗体による細胞表面マーカー分析上の問題点－特に検体の取り扱いについてー； 臨床免疫 vol.19 Suppl.11, 42-49.
31. 巽典之ほか：1987 リンパ球サブセット及び白血病タイピングにおけるモノクロナール抗体の選択；臨床免疫 vol.19 Suppl.11, 50-58.
32. 高瀬浩造ほか：1985.モノクロナール抗体による細胞表面抗原検出における非特異的反応の成因とその除去に関する研究；日本臨床免疫学会誌 vol.8, 184-191.
33. 上田龍三：1987. ヒト白血球分化抗原の CD 分類；臨床免疫 vol.19 Suppl.11, 5-7

**問い合わせ先

ベックマン･コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目５番７号 TOC 有明ウエストタワー

TEL： 0120-566-730　FAX： 03-5530-2460

**製造販売元

ベックマン･コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目５番７号 TOC 有明ウエストタワー

BECKMAN COULTER

6604621_0911